P169

マラリア原虫エノラーゼの研究 (II) マラリア

患者血清における解糖系酵素とエノラーゼ人工合成ペプチドの抗原性の比較 ○佐藤久美子¹、狩野繁之²、奥浩之³、増田剛太⁴、山田圭一³、片貝良一³、鈴木守⁵ (¹群大・医・応検、²国立国際医療センター研究所、³群大・工・材工、⁴都立駒込病院・感染症科、⁵群大・医・寄生虫)

エノラーゼをはじめとする解糖系酵素群は生物が生存するために必須であり、マラリア原虫の感染・増殖にとっても大きな役割を担っていると思われる。我々は既にマラリア原虫患者血清において、感染初期に抗エノラーゼ抗体が多量に産生されることを確かめ、感染経過とエノラーゼ抗体価の変化を患者血清で経時的に調べた。その結果、抗エノラーゼ抗体は感染の比較的初期に上昇する事が確認された。一方、マラリア原虫のエノラーゼは我々が日常的に暴露されている無害なイースト菌エノラーゼとアミノ酸配列の相同性が高いことから、イースト菌エノラーゼを抗原とする蛍光-ELISAによる抗体検査を試み、マラリア疫学調査に十分使用可能であることの結果を得た。今回、我々は蛍光-ELISAを用い、患者血清及び健康人血清について、イースト菌のエノラーゼ以外の解糖系酵素であるヘキソキナーゼやアルドラーゼに対応する抗体の有無や本研究シリーズの (I) で発表したマラリア原虫エノラーゼの人工合成ペプチドに対する抗体との関連を検討した。その結果、ヘキソキナーゼやアルドラーゼに反応する抗体は患者血清中に高率に見られ、またエノラーゼ人工合成ペプチドにもよく反応したが、合成ペプチドに対する反応性は、ペプチドの種類によって多少異なることがわかった。一方、健康人血清中にもヘキソキナーゼやアルドラーゼ、エノラーゼ人工合成ペプチドに対し強く反応する血清がみられた。

P170

Differential growth response of *Plasmodium*

falciparum strains in intact bovine serum albumin ○PALACPAC Nirianne^{1,2}, HUGO Cecilia¹, URADE Yoshihiro², HORII Toshihiro¹ and MITAMURA Toshihide¹ (Dept. Mol. Protozool., Research Inst. for Microbial Diseases, Osaka Univ., ²Dept. Mol. Behavioral Biology, Osaka Bioscience Institute)

Human serum (HS) is an essential culture medium additive in the continuous culture of *Plasmodium falciparum*, indicating that growth promoting factors derived from HS are crucial for the intraerythrocytic development and cell cycle progression of the malaria parasite. Though hypoxanthine has been proven to be the essential factor in the serum, it was not sufficient to support optimum growth in a serum free medium without the supplement of other biochemicals. Recently, we have shown that only fractions of HS containing serum albumin (SA) or purified intact bovine serum albumin (IBSA) showed comparable growth promoting activity with HS. In the serum-free medium containing IBSA, however, we observed that different *P. falciparum* strains respond differently in terms of growth. The clones HB3, Dd2, and their progenies in a genetic cross, also showed differential growth response implying that genetic analysis can be used to localize the determinants for such traits and study the regulatory molecules that are involved in cell cycle progression and intraerythrocytic development. Cell biological analysis highlighted the difference in the growth pattern and provides an insight on the influence of IBSA in what may be a parasite-induced modification for survival and proliferation in different host environment.

P171

Elucidation of the biological role of sphingomyelinase in the intraerythrocytic proliferation of *Plasmodium falciparum*

○MAGISTRADO Pamela¹, HANADA Kentaro², FUKASAWA Masayoshi², PALACPAC Nirianne¹, RAI Ganesh¹, NISHIJIMA Masahiro², HORII Toshihiro¹ and MITAMURA Toshihide¹ (Dept. Mol. Protozool., Research Inst. for Microbial Diseases, Osaka Univ., ²Dept. Biochem. and Cell Biol., National Inst. of Infectious Diseases)

It has been established that sphingolipid metabolism is important in various cellular events among eukaryotes. In contrast, for the intraerythrocytic stage of the malaria parasite, *Plasmodium falciparum*, sphingolipid metabolism as well as the enzymes involved are not yet well characterized. In previous studies, a labeled sphingomyelin (SM) product was detected after incubation of *P. falciparum*-infected erythrocytes with the labeled ceramide substrate, suggesting the presence of an SM synthase in the parasite. However, it is believed that *P. falciparum* and the erythrocyte cannot synthesize ceramide *de novo* as shown by metabolic labeling with precursors such as serine and palmitate. It is therefore pertinent to know how the parasite meets the demand for ceramide during SM synthesis. We hypothesize that *P. falciparum* obtains its ceramide through the degradation of SM from the erythrocyte plasma membrane. Recently, we have demonstrated that the parasite cell lysate retains a sphingomyelinase activity. In this study, we show the importance of sphingomyelinase in the intraerythrocytic proliferation of *P. falciparum* through cell biological analyses.

P172

ポジショナルクローニングによって見い出

された熱帯熱マラリア原虫の新規赤血球侵入関連分子 ○金子 修¹、チン・シャン・スー²、デイヴッド・フィドック²、サンドリン・ソウベ²、トーマス・ウェレムズ²、鳥居本美¹、ルイス・ミラー² (¹愛媛大・医・寄生虫、²米国国立アレルギー感染症研究所・寄生虫)

我々は、熱帯熱マラリア原虫の二つの株、HB3 と Dd2 を用いた遺伝子交配系 (HB3×Dd2) を用いて、新たな赤血球結合蛋白候補を見出した。予備実験の結果、HB3 株はラットの赤血球に侵入できるが、Dd2 株は全く侵入できないことが分かった。そこで、21 の独立した HB3×Dd2 遺伝子交配子孫株のラット赤血球への侵入能を調べたところ、ラット赤血球に侵入できる群とできない群の2群に分けることができた。この赤血球侵入能と、子孫株が親株より受け継いだマイクロサテライト・マーカーのパターンを比較した結果、第4染色体に計算上 35kb の関連領域が見つかった。熱帯熱マラリア原虫ゲノム計画より、この領域に赤血球結合蛋白である EBA-175 や三日熱マラリア原虫の網状赤血球結合蛋白と構造の似た遺伝子が存在することが明らかになった。我々は、これらの新たな赤血球結合蛋白候補分子が実際にラット赤血球への侵入に関与しているのか、また、これらの蛋白がヒト赤血球への侵入にどのように関与しているのかの検討をすすめている。

(<http://www.m.chime-u.ac.jp/school/parasitology/index.html>)